QUANTA Flash® Ro52 701263

Reactivos

Para uso diagnóstico *In Vitro*
SOLO PARA EXPORTACIÓN. NO COMERCIALIZABLE EN ESTADOS UNIDOS.

Uso previsto

El QUANTA Flash Ro52 es un inmunoensayo por quimioluminiscencia para la determinación semicuantitativa de anticuerpos anti-Ro52 (SS-A 52) en suero humano. La presencia de anticuerpos anti-Ro52, junto con resultados clínicos y otras pruebas de laboratorio, puede ayudar a diagnosticar el lupus eritematoso sistémico, el síndrome de Sjögren, la esclerosis sistémica, la polimiositis y la dermatomiositis.

Resumen y explicación de la prueba

Los anticuerpos anti-Ro (SS-A), descritos por primera vez en el lupus eritematoso sistémico (SLE) y en el síndrome de Sjögren (SS), muestran la especificidad más prevalente frente al antígeno nuclear extraíble (ENA) identificada en los laboratorios.[1]. Se han descrito dos tipos de anticuerpo anti-Ro: el anti-Ro de 52 kDa (SS-A 52) y el anti-Ro de 60 kDa (SS-A 60), cada uno de ellos específico para un antígeno diferente. Estos autoanticuerpos se han considerado tradicionalmente un sistema de autoanticuerpos uniforme, pero estudios recientes han demostrado que el Ro60 y el Ro52 no forman parte de un complejo macromolecular estable y que los anticuerpos anti-Ro52 y anti-Ro60 presentan distintas asociaciones clínicas.[2] Recientemente, el antígeno Ro52 ha sido identificado como la proteína TRIM21.[3]

Los autoanticuerpos anti-Ro52 están presentes con frecuencia en el suero de pacientes con SS (40-70%) o LES (20-40%). Además, los anticuerpos anti-Ro tienen un especial significado diagnóstico en el bloqueo cardiaco congénito. El bloqueo auriculoventricular completo congénito aislado (CAVB) muestra una estrecha asociación con los anticuerpos anti-Ro y anti-SS-B (La) maternales, y los riesgos relativos más elevados del CAVB se observan en la progenie de madres que poseen anticuerpos contra las proteínas Ro de 52 kDa y SS-B de 48 kDa.[4]

Los anticuerpos anti-Ro52 pueden pasar desapercibidos en los análisis serológicos utilizados comúnmente para el antígeno Ro. Cabe destacar que la reactividad simple frente al Ro52 o Ro60 puede pasar por alto cuando se determina mediante un ELISA clásico para Ro basado en una mezcla de ambos antígenos. Es posible que aproximadamente el 20% de las muestras positivas para el Ro52 o Ro60 no sean detectadas si se utiliza una mezcla de ambos antígenos.[2,5] Por tanto, es importante realizar análisis separados para cada una de las dos especificidades de anticuerpos.

Si bien la mayoría de las veces el anti-Ro52 se encuentra en pacientes con LES y SS junto al anti-Ro60, se ha descrito una alta frecuencia de anti-Ro52 aislado en pacientes con esclerosis sistémica (ES), polimiositis (PM) y dermatomiositis (DM).[5-7] La prevalencia de anti-Ro52 en la ES y en la miositis es significativamente más elevada que la de anti-Ro60. Una estudio basado en 1.010 pacientes afectados de ES obtuvo una prevalencia de anti-Ro52 del 15-38%.[5] En los subgrupos definidos por el anti-Ro60 y por el anticuerpo anti-sintetasa aminoacil-tARN, el anti-Ro52 estuvo presente en el 92% y en el 100% de los casos, respectivamente. El anti-Ro52 aislado (sin anti-Ro60) puede encontrarse en hasta el 20-37% de los pacientes con miositis. Sin embargo, en los sueros de miositis positivos para el anti-Jo-1, la frecuencia de los anticuerpos anti-Ro52 ha sido mucho más elevada (58%). Asimismo, la coexistencia de anticuerpos anti-Ro52 y anti-Jo-1 parece ser un predictor de enfermedad pulmonar intersticial relativamente grave en pacientes con miopatía inflamatoria.[8,9]

Principios del procedimiento

Se recubren partículas paramagnéticas con antígeno Ro52 recombinante purificado y se guardan en el cartucho de reactivos en unas condiciones que mantienen el antígeno en su estado reactivo. Cuando el cartucho del ensayo está preparado para el primer uso, se añade una solución tampón al tubo que contiene las partículas y estas se mezclan con el tampón. A continuación, se coloca el cartucho de reactivos en el instrumento BIO-FLASH®.

Mediante el instrumento se diluye una muestra de suero de paciente en una cubeta desechable de plástico. Se combinan en una segunda cubeta y se mezclan pequeñas cantidades del suero de paciente diluido, las partículas de Ro52 y el tampón del ensayo. Esta cubeta se incuba a 37 °C y, después, las partículas se magnetizan y se lavan varias veces. A continuación se añade anticuerpo anti-IgG humana conjugado con isoluminol a la cubeta y se incuba a 37 °C. De nuevo, las partículas se magnetizan y se lavan repetidamente. El conjugado de isoluminol produce una reacción luminiscente cuando se añaden a la cubeta los reactivos “iniciadores”. La luz generada por la reacción se mide como unidades relativas de luz (RLU) mediante el sistema óptico del BIO-FLASH. El número de RLU es proporcional a la cantidad de conjugado de isoluminol ligado, que a su vez es proporcional a la cantidad de anticuerpos anti-Ro52 unidos al Ro52 en las partículas.

El ensayo QUANTA Flash Ro52 utiliza una curva maestra predefinida específica para cada lote que se carga en el instrumento mediante el código de barras del cartucho de reactivos. A partir de los resultados obtenidos mediante el análisis de dos calibradores se genera una curva de trabajo específica para el instrumento, que el software utiliza para calcular las unidades de quimioluminiscencia (CU) basándose en el valor de RLU obtenido para cada muestra.

Reactivos

1. El cartucho de reactivos del QUANTA Flash Ro52 contiene los siguientes reactivos para 50 determinaciones:
    a. Partículas paramagnéticas recubiertas de Ro52, conservadas antes del primer uso.
    b. Tampón del ensayo, de color rosa, que contiene solución salina tamponada con Tris, Tween 20, estabilizantes de proteínas y conservantes.
    c. IgG trazadora: anticuerpos anti-IgG humana marcados con isoluminol, que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservante.
2. Tampón de resuspensión, de color rosa, en un vial que contiene tampón, estabilizantes de proteínas y conservantes.

Advertencias

1. El tampón del ensayo contiene una sustancia química (cloranfenicol al 0,02%) que está clasificada como cancerígena por el Estado de California.
2. Se utiliza azida sódica como conservante. La azida sódica es una sustancia venenosa que puede resultar tóxica si se ingiere o si se absorbe a través de la piel o los ojos. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Si utiliza pilas de lavado para eliminar los reactivos, aclare con abundante cantidad de agua para evitar la formación de azidas metálicas.
3. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
4. Los derrames de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente cuando elimine residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro* .
2. Este ensayo solo debe utilizarse con el instrumento BIO-FLASH.
3. Se recomienda seguir estrictamente el protocolo de resuspensión indicado.
4. Una vez abierto, el cartucho de reactivos debe almacenarse en la bandeja de reactivos del instrumento. La colocación por primera vez del cartucho de reactivos en el instrumento debe realizarse con todo cuidado para no derramar reactivos.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o un aclarado inadecuados del instrumento. Los restos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Limpie siempre el instrumento siguiendo las recomendaciones indicadas en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los cartuchos de reactivos no abiertos y el tampón de resuspensión entre 2 y 8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y se manipulan tal como está indicado.
2. Los cartuchos de reactivos abiertos deben guardarse cargados en el instrumento. Permanecen estables durante 24 días y deben desecharse transcurrido este tiempo. El software BIO-FLASH supervisa las fechas de caducidad de los cartuchos cargados, así como las de los lotes de cartuchos de reactivos.

Recogida, preparación y manejo de las muestras

Este procedimiento debe realizarse en una muestra de suero. No deben utilizarse muestras que estén contaminadas con microorganismos, que hayan recibido un tratamiento a base de calor o que contengan partículas visibles.

Tras la recogida, el suero debe separarse del coágulo. El documento H18-A4 del CLSI recomienda las siguientes condiciones de almacenamiento de muestras.

1. No guarde las muestras a temperatura ambiente durante más de 8 horas.
2. Si el análisis no se efectúa en un plazo de 8 horas, refrigere las muestras a una temperatura de 2 a 8 °C.
3. Si el análisis no va a realizarse en un plazo de 48 horas o si las muestras deben prepararse para ser enviadas, congélelas a una temperatura −20 °C o inferior. Las muestras congeladas deben mezclarse bien después de descongelarse y antes del análisis.

Procedimiento

Materiales suministrados

1 Cartucho de reactivos QUANTA Flash Ro52
1 Tampón de resuspensión
1 Pipeta de transferencia

Materiales adicionales necesarios no suministrados

Instrumento BIO-FLASH con ordenador para manejarlo
Líquido de lavado del sistema BIO-FLASH (número de componente: 3000-8205)
Iniciadores BIO-FLASH (número de componente: 3000-8204)
Cubetas BIO-FLASH (número de componente: 3000-8206)
Calibradores QUANTA Flash Ro52 (número de componente: 701261)
Controles QUANTA Flash Ro52 (número de componente: 701262)

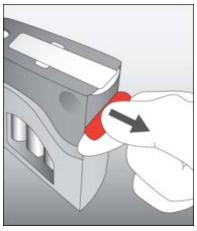
Uso del analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH

1. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH. Para obtener más información o solucionar problemas relativos a este ensayo, póngase en contacto con el servicio técnico de INOVA Diagnostics, Inc., en la dirección o número de teléfono indicados al final de estas instrucciones de uso.
2. Para vaciar el recipiente de residuos sólidos, abra el cajón de residuos. Retire el recipiente de residuos sólidos y deshágase apropiadamente de las cubetas usadas. Vuelva a colocar el recipiente de residuos sólidos, cierre el cajón de residuos y haga clic en **Yes** en la ventana **Empty Waste Drawer**.
3. Para sustituir los iniciadores, haga clic en el botón **Bulks Inventory F9** de la parte superior derecha.
    a. En la pantalla **Inventory – Bulks**, haga clic en el botón **Triggers** situado a la izquierda. Se abrirá la ventana **Add Triggers – Remove old bottles.**
    b. Abra el cajón de residuos del instrumento BIO-FLASH y extráigalo. Deposite todas las cubetas en el cajón de residuos secos. Haga clic en **Yes** en la ventana **Empty Waste Drawer**. Retire los frascos del iniciador de sus soportes y haga clic en el botón **Next**. Desenrosque los frascos viejos del iniciador de sus tapones y sustitúyalos por nuevos iniciadores. Realice la operación frasco a frasco y respete el código de color de los tapones (blanco-blanco, rojo-rojo).
    c. Siga las instrucciones de la ventana que se abrirá, **Add Triggers – Add Trigger 2 bottle.** Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 2 en el soporte de color blanco. Haga clic en **Next**.
    d. Siga las instrucciones de la ventana **Add Triggers – Add Trigger 1 bottle.** Una vez aceptado el código de barras, coloque el iniciador 1 en el soporte de color rojo. Haga clic en **Finish.** Vuelva a colocar el cajón de residuos y ciérrelo.
4. Para sustituir el recipiente de líquido de lavado del sistema, haga clic en el botón **Bulks Inventory F9** en la esquina superior derecha. En la pantalla **Inventory – Bulks**, haga clic en el botón **Sys. Rinse**. En la ventana que se abrirá, **Add System Rinse – Remove bottles**, haga clic en **Next.** Siga las instrucciones de la nueva ventana que se abrirá, **Add System Rinse – Add bottle.** Una vez aceptado el código de barras, haga clic en **Finish**, si es necesario.
5. Para vaciar el recipiente de residuos líquidos, en la pantalla **Inventory – Bulks**, haga clic en el botón **Fluid Waste**. Extraiga el residuo líquido y elimínelo. Haga clic en **Next**. Una vez sustituido el frasco vacío, haga clic en **Finish**.

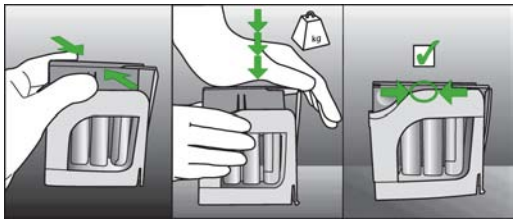
Método

Preparación del cartucho de reactivos

La primera vez que se utilice el cartucho de reactivos, deben seguirse los pasos indicados a continuación para instalarlo adecuadamente en el instrumento BIO-FLASH. Nota: No use el cartucho de reactivos si presenta cualquier signo de daño.

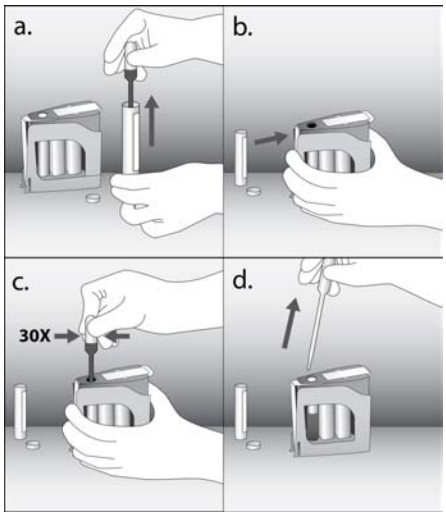


1. Coloque el cartucho de reactivos sobre una superficie sólida. Con una mano, sostenga el cartucho de reactivos en su lugar. Con la otra mano, agarre con fuerza la pestaña roja de la parte posterior del cartucho de reactivos y tire de ella completamente.



2. Pulse las dos pestañas laterales del tapón de perforación (parte gris) y aplique presión a la parte superior del cartucho de reactivos hasta que descienda y alcance un tope. Las pestañas deben quedar ocultas. NO INVIERTA EL CARTUCHO ABIERTO.

3. Resuspenda las micropartículas de Ro52:



   a. Destape el vial del tampón de resuspensión y recoja líquido con la pipeta de transferencia suministrada. Se utilizará todo el contenido del vial.

   b. Presione suavemente el lateral estrecho del cartucho de reactivos para deslizar la tapa del cartucho hasta la posición abierta y manténgala en esta posición. Transfiera analíticamente todo el contenido del vial al tubo de reactivo de micropartículas a través del orificio único de la parte superior del cartucho de reactivos.

   c. Mezcle el contenido del tubo de reactivo de micropartículas aspirando y dispensando el líquido al menos 30 veces. Si se observan grupos visibles de partículas, continúe mezclando la solución 30 veces más. Si las micropartículas no se resuspenden, NO UTILICE EL CARTUCHO.

   d. Asegúrese de dispensar todo el líquido antes de retirar la pipeta del tubo y desecharla.

4. Retire el adhesivo de la parte superior del cartucho de reactivos para descubrir los otros tres orificios.

5. Coloque el cartucho de reactivos en cualquier ranura abierta del carrusel de reactivos del instrumento BIO-FLASH.

Calibración del ensayo

1. Cada nuevo lote de cartuchos de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Consulte el apartado **Calibradores QUANTA Flash® Ro52 701261** de este documento para obtener instrucciones de uso detalladas sobre cómo calibrar el cartucho de reactivos.
3. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse.

Programación y análisis de las muestras

1. Pulse el botón **Worklist** de la parte superior de la pantalla y seleccione la pestaña **Racks** de la parte inferior.
2. Seleccione la gradilla de muestras que se utilizará, marcándola en la pantalla o escaneando su código de barras con el lector manual. Escanee o escriba el nombre de la muestra, indique el tipo de muestra, elija el tipo de recipiente (tubo/copa) y seleccione Ro52 en el panel del ensayo. Repita estos pasos para todas las muestras.
3. Cargue las muestras en las posiciones seleccionadas de la gradilla de muestras y colóquela en la bandeja de muestras del instrumento.
4. Cuando todos los materiales necesarios estén cargados en el instrumento, el icono de inicio pasará a estar disponible, en color verde, en la parte superior de la pantalla. Pulse el icono **Start F4** para comenzar el análisis.

Control de calidad

Los Controles QUANTA Flash Ro52 (vendidos por separado; número de producto de INOVA: 701262) contienen los controles positivos y negativos para el Ro52. Consulte el apartado **Controles QUANTA Flash® Ro52 701262** de este documento para obtener instrucciones detalladas sobre cómo introducir todos los datos necesarios de cada control en el software y cómo analizar los controles. Se recomienda analizar los controles una vez cada día en que se utilice el ensayo, aunque los usuarios también deben tener en cuenta los requisitos de la legislación nacional y local.

Cálculo de los resultados

INOVA genera una curva maestra de cinco puntos para cada nuevo lote del QUANTA Flash Ro52. Esta curva logística de cuatro parámetros se codifica mediante el código de barras de cada cartucho de reactivos. Una vez calibrado un cartucho de reactivos, se utilizará una curva de trabajo específica del instrumento para convertir las RLU a CU. La reactividad del anticuerpo frente al Ro52 puede entonces clasificarse según la tabla siguiente.

Reactividad	**CU**
Negativa	<20
Positiva	≥20

La reactividad expresada en CU está directamente relacionada con la valoración de autoanticuerpos en la muestra del paciente. Los aumentos y disminuciones de concentración de los autoanticuerpos de los pacientes se reflejarán en un correspondiente aumento o disminución del valor CU, que es proporcional a la cantidad de anticuerpo.

El intervalo de medición analítica (AMR) del ensayo va de 2,3 CU a 1.685,3 CU. Si el resultado de un paciente es inferior a 2,3 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “< 2,3 CU”. Dado que este valor es inferior a 20 CU, se considera un resultado negativo. Si el resultado de un paciente es superior a 1.685,3 CU, el sistema BIO-FLASH indicará “> 1.685,3 CU”. Este valor se considera un resultado positivo. El software BIO-FLASH dispone de una opción denominada Auto-Rerun (“reanálisis automático”). Si esta opción está seleccionada, el instrumento volverá a analizar de forma automática cualquier muestra que presente un resultado superior a 1.685,3 CU, tras diluirla nuevamente según un factor de 35, y calculará las CU reales a partir de este factor de dilución adicional.

Interpretación de los resultados

El ensayo QUANTA Flash permite detectar pequeñas diferencias en las poblaciones de pacientes. Se aconseja que cada laboratorio verifique el intervalo de referencia indicado por el fabricante y, si lo desea, establezca su propio intervalo normal a partir de sus propios controles y su población de pacientes, de acuerdo con sus procedimientos particulares.

Es recomendable que los resultados comunicados por el laboratorio incluyan la información siguiente: “Los siguientes resultados se han obtenido mediante el inmunoensayo por quimioluminiscencia QUANTA Flash Ro52 de INOVA. Es posible que los valores obtenidos con métodos de ensayo de otros fabricantes no sean intercambiables con dichos resultados. La magnitud de los niveles de autoanticuerpos obtenidos no siempre puede correlacionarse con una valoración de punto final”.

Limitaciones del procedimiento

1. No todos los pacientes con LES, SS, ES y MAI son positivos para los anticuerpos anti-Ro52.
2. Los resultados de este análisis deben utilizarse junto con datos clínicos y otras pruebas serológicas.
3. Si la resuspensión de las partículas recubiertas de Ro52 no se efectúa de un modo adecuado, pueden obtenerse resultados inferiores en comparación con los análisis que han tenido una resuspensión adecuada.
4. Las características de funcionamiento de este ensayo no se han establecido para matrices de muestras distintas del suero.

Intervalo de referencia

El límite de detección del ensayo se ha determinado utilizando 155 muestras procedentes de sujetos de referencia: 115 muestras de donantes de sangre aparentemente sanos (15 hombres y 100 mujeres; edades: 19-69), 8 muestras positivas para la hepatitis vírica (6 hombres y 2 mujeres; edades: 19-44), 5 muestras positivas para la sífilis (1 hombre y 4 mujeres; edades: 27-57), 5 muestras positivas para el VIH (4 hombres y 1 mujer; edades: 28-51) y 22 muestras de AR (los datos de edad y sexo no están disponibles). El límite de detección se ha establecido como superior al percentil 98 de los resultados obtenidos en los sujetos de referencia y se le ha asignado un valor de 20 CU.

Valores esperados

El valor esperado en la población normal es “negativo”. Los niveles de autoanticuerpo anti-Ro52 se han analizado en una cohorte de 111 donantes de sangre aparentemente normales (21 mujeres y 90 hombres; edades: 17-60) utilizando el QUANTA Flash Ro52. Con el límite de detección de 20 CU, ninguna de las muestras dio un resultado positivo en el QUANTA Flash Ro52. La concentración media fue de 8,3 CU y los valores oscilaron entre < 2,3 CU y 19,3 CU.

Sensibilidad y especificidad clínicas

En el estudio de validación clínica se utilizaron en total 289 muestras de pacientes (81 con LES, 24 con síndrome de Sjögren, 48 con ES y 40 con miositis autoinmune, MAI). Sirvieron de controles 50 pacientes con artritis reumatoide, 20 con enfermedad tiroidea autoinmune, 11 con enfermedad celíaca y 15 con varias enfermedades infecciosas.

La sensibilidad y la especificidad clínicas para SS (n = 24), LES (n = 81), ES (n = 48) y MAI (n = 40), utilizando la población de control (n = 96), se calcula en las cuatro tablas que figuran a continuación:

Sensibilidad y especificidad clínicas del QUANTA Flash Ro52 para el SS:

Análisis clínico n = 120		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		SS	Sin SS	Total	
QUANTA Flash® Ro52	Positivo	14	3	17	Sensibilidad = 58,3% (36,6-77,9%)
	Negativo	10	93	103	Especificidad = 96,9% (91,1-99,4%)
	Total	24	96	120	

Sensibilidad y especificidad clínicas del QUANTA Flash Ro52 para el LES:

Análisis clínico n = 177		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		LES	Sin LES	Total	
QUANTA Flash® Ro52	Positivo	36	3	39	Sensibilidad = 44,4% (33,4-55,9%)
	Negativo	45	93	138	Especificidad = 96,9% (91,1-99,4%)
	Total	81	96	177	

Sensibilidad y especificidad clínicas del QUANTA Flash Ro52 para la ES:

Análisis clínico n = 144		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		ES	Sin ES	Total	
QUANTA Flash® Ro52	Positivo	6	3	9	Sensibilidad = 12,5% (4,7-25,2%)
	Negativo	42	93	135	Especificidad = 96,9% (91,1-99,4%)
	Total	48	96	144	

Sensibilidad y especificidad clínicas del QUANTA Flash Ro52 para la MAI:

Análisis clínico n = 136		Diagnóstico			Análisis (intervalo de confianza: 95%)
		MAI	Sin MAI	Total	
QUANTA Flash® Ro52	Positivo	14	3	17	Sensibilidad = 35,0% (20,6-51,7%)
	Negativo	26	93	119	Especificidad = 96,9% (91,1-99,4%)
	Total	40	96	136	

Comparación de métodos con un instrumento destinado al mismo fin

Las muestras para el análisis de comparación de métodos han sido aquellas muestras de los estudios de validación clínica (pacientes con SS, LES, ES y MAI, otros controles de enfermedad y donantes de sangre aparentemente sanos) que se encontraban dentro del intervalo notificable del ensayo. Sesenta y seis de dichas muestras se analizaron mediante el QUANTA Flash Ro52 y un ELISA destinado al mismo fin. La tabla siguiente presenta los datos obtenidos:

Comparación de métodos (N = 62)		ELISA Ro52			Porcentaje de concordancia (intervalo de confianza: 95%)
		Negativo	Positivo	Total	
QUANTA Flash® CIA Ro52	Negativo	40	2	42	Conc. pos. = 90,0% (68,3-98,8%)
	Positivo	2	18	20	Conc. neg. = 95,2% (83,8-99,4%)
	Total	42	20	62	Conc. total = 93,5% (84,3-98,2%)

Precisión y reproducibilidad

La precisión del ensayo QUANTA Flash Ro52 se ha evaluado analizando seis muestras de pacientes según el documento EP5-A2 del CLSI. A continuación se resumen los datos obtenidos:

			Intraensayo		Interensayo		Interdía		Total	
Muestra	N	Media (CU)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
1	84	13,43	0,56	**4,1**	0,29	**2,2**	1,55	**11,6**	1,68	**12,5**
2	84	21,36	0,90	**4,2**	0,42	**2,0**	2,26	**10,6**	2,47	**11,5**
3	84	61,56	2,86	**4,6**	1,39	**2,3**	5,12	**8,3**	6,03	**9,8**
4	84	144,15	9,49	**6,6**	0,00	**0,0**	14,16	**9,8**	17,04	**11,8**
5	88	275,83	16,62	**6,0**	0.00	**0,0**	25,67	**9,3**	30,58	**11,1**
6	80	820,46	56,42	**6,9**	33,78	**4,1**	51,26	**6,2**	83,37	**10,2**

Rango de medición analítica: límites y linealidad

El rango de medición analítica (AMR) del ensayo va de 2,3 CU a 1.685,3 CU.

El límite de detección de este ensayo es 668,9 RLU, un valor inferior al AMR del ensayo (2,3 CU). Se ha determinado que es consistente con la directriz EP17-A del CLSI, con una proporción de falsos positivos (α) y de falsos negativos (β) inferior al 5%.

El AMR completo, que va de 2,3 CU a 1.685,3 CU, es lineal. Se ha realizado un estudio de linealidad conforme al documento EP6-A del CLSI utilizando seis muestras de suero con diferentes concentraciones de anticuerpo anti-Ro52. Cada una de las seis muestras presentó linealidad de dilución y los datos combinados generaron los resultados siguientes con regresión lineal:

Muestra	**Rango analítico (CU)**	**Pendiente (IC del 95%)**	**Intersección en Y (IC del 95%)**	**R^2**
Todas las muestras	De 0,6 a 1.758,6	1,03 (de 1,02 a 1,04)	3,61 (de −0,86 a 8,08)	1,00

Interferencia y reactividad cruzada

No se ha detectado interferencia con una concentración de hemoglobina de hasta 200 mg/dL, de triglicéridos de hasta 1.000 mg/dL, de colesterol de hasta 224,3 mg/dL, de bilirrubina de hasta 10 mg/dL y de IgM anti-RF de hasta 500 UI/mL.

Se han analizado 96 muestras de pacientes con diversas enfermedades autoinmunes e infecciosas para evaluar la reactividad cruzada. Una muestra de un paciente con hepatitis vírica y dos muestras de pacientes con artritis reumatoide fueron positivas en el CIA QUANTA Flash Ro52.

QUANTA Flash® Ro52 701261

Calibradores

Para uso diagnóstico *In Vitro*

SOLO PARA EXPORTACIÓN. NO COMERCIALIZABLE EN ESTADOS UNIDOS.

Uso previsto

Los Calibradores QUANTA Flash Ro52 están destinados a utilizarse con los Reactivos QUANTA Flash Ro52 para la determinación de autoanticuerpos IgG anti-Ro52 en suero humano. Cada calibrador establece un punto de referencia para la curva de trabajo que se emplea para calcular los valores unitarios.

Resumen y principios del procedimiento

El inmunoensayo por quimioluminiscencia (CIA) QUANTA Flash Ro52 usa una curva maestra predefinida específica de cada lote que se guarda en el código de barras del cartucho de reactivos. Los Calibradores QUANTA Flash Ro52 están diseñados para generar una curva de trabajo específica para el instrumento a partir de los parámetros de la curva maestra, con un punto de decisión basado en las características de rendimiento y en la evaluación clínica del ClA QUANTA Flash Ro52. Los calibradores se analizan en varios instrumentos con diversos lotes de reactivos antes de efectuar la asignación de valores.

Reactivos

1. Calibrador 1 del QUANTA Flash Ro52: Dos tubos con etiqueta de código de barras que contienen 0,3 mL de reactivo prediluido listo para usar. Los calibradores contienen anticuerpos humanos anti-Ro52 con estabilizantes y conservantes.
2. Calibrador 2 del QUANTA Flash Ro52: Dos tubos con etiqueta de código de barras que contienen 0,3 mL de reactivo prediluido listo para usar. Los calibradores contienen anticuerpos humanos anti-Ro52 con estabilizantes y conservantes.

Advertencias

1. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los calibradores para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos frente al VIH, el HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia de VIH, VHB, VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los calibradores QUANTA Flash Ro52 deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.[10]
2. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
3. Los derrames de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente cuando elimine residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Los Calibradores QUANTA Flash Ro52 deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash Ro52.
3. No transfiera los reactivos de los calibradores a otros tubos. El instrumento utiliza los códigos de barras de los tubos para ajustar los calibradores al tipo de análisis adecuado.
4. Una vez abiertos los tubos, los calibradores pueden utilizarse durante un máximo de 8 horas o 4 calibraciones; transcurrido este tiempo, los reactivos deben desecharse.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o un aclarado inadecuados del instrumento. Los restos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Limpie siempre el instrumento siguiendo las recomendaciones indicadas en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1 Guarde los calibradores no abiertos a una temperatura entre 2 y 8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y se manipulan tal como está indicado.

2. Los calibradores abiertos deben desecharse al cabo de 8 horas.

Procedimiento

1. Cada nuevo lote de cartuchos de reactivos debe calibrarse antes del primer uso. El software no permitirá usar un lote nuevo hasta que se calibre.
2. Cada calibrador debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los dos tubos del calibrador y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en la bandeja de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del calibrador e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.
3. El instrumento analizará cada calibrador por triplicado. Una vez analizados los calibradores, el software solicitará la validación de la calibración. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en botón de flecha **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **Calibration Ctrl-F3**. En la ventana de calibración, marque el ensayo deseado y haga clic en **Details**.
4. En la ventana **Calibration Details** que se abrirá, seleccione la calibración que acaba de efectuar. La curva maestra se visualizará como una línea discontinua y la nueva curva de trabajo, como una línea continua. Si los resultados de la calibración son válidos, en la parte inferior izquierda de la pantalla aparecerá un botón de validación. Haga clic en el botón **Validate Calibration**.
5. Una vez validada la calibración, el lote de cartuchos de reactivos en el que se ha efectuado la calibración estará preparado para utilizarse. Se recomienda analizar los Controles QUANTA Flash Ro52 (vendidos por separado; número de producto: 701262) tras calibrar un lote de cartuchos de reactivos.

Trazabilidad

No está disponible ningún suero de referencia internacional para los anticuerpos anti-Ro52 que permita estandarizar los ensayos con estos anticuerpos. En su lugar, se ha analizado el suero de referencia del Center of Disease Control and Prevention para anticuerpos anti-SS-A/Ro (IS2105 ANA núm.7 anti-SS-A/Ro) y se ha determinado una concentración de 40,8 CU.

Limitaciones

Estos calibradores están diseñados para realizar 4 calibraciones. El tiempo máximo durante el que los tubos del calibrador pueden permanecer destapados una vez cargados en el instrumento es de 8 horas. Si los calibradores permanecen destapados en el instrumento durante más de 8 horas, deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de calibrador para más de 4 calibraciones y/o durante más de 8 horas, es posible que la calibración del ensayo sea incorrecta, lo que producirá resultados erróneos.

QUANTA Flash® Ro52 **701262**

Controles

Para uso diagnóstico *In Vitro*

SOLO PARA EXPORTACIÓN. NO COMERCIALIZABLE EN ESTADOS UNIDOS.

Uso previsto

Los Controles QUANTA Flash Ro52 están destinados a utilizarse con los Reactivos QUANTA Flash Ro52 para el control de calidad en la determinación de autoanticuerpos IgG anti-Ro52 en suero humano.

Resumen y principios del procedimiento

Los Controles QUANTA Flash Ro52 están constituidos por un control negativo y un control positivo. Cada uno de ellos contiene una cantidad diferente de anticuerpos anti-Ro52. El control negativo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles muy bajos de autoanticuerpos. El control positivo está diseñado para evaluar la precisión y la exactitud del ensayo a niveles de autoanticuerpos entre moderados y altos.

Reactivos

1. Control negativo QUANTA Flash Ro52: Dos tubos con etiqueta de código de barras que contienen 0,5 mL de reactivo listo para usar. Los controles contienen anticuerpos humanos anti-Ro52 con estabilizantes y conservantes.
2. Control positivo QUANTA Flash Ro52: Dos tubos con etiqueta de código de barras que contienen 0,5 mL de reactivo listo para usar. Los controles contienen anticuerpos humanos anti-Ro52 con estabilizantes y conservantes.

Advertencias

1. Todo el material de origen humano usado en la preparación de los controles para este producto ha sido analizado y ha producido un resultado negativo con respecto a la presencia de anticuerpos frente al VIH, el HBsAg y el VHC, según métodos aprobados por la FDA. Sin embargo, ningún método de análisis puede ofrecer plenas garantías de la ausencia de VIH, VHB, VHC u otros agentes infecciosos. Por ello, los Controles QUANTA Flash Ro52 deben manipularse como si se tratara de material potencialmente infeccioso.[10]
2. Utilice un equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
3. Los derrames de reactivos deben limpiarse inmediatamente. Cumpla todas las normas estatales y locales sobre protección del medio ambiente cuando elimine residuos.

Precauciones

1. Este producto está destinado a uso diagnóstico *In Vitro*.
2. Los Controles QUANTA Flash Ro52 deben utilizarse con el ensayo QUANTA Flash Ro52.
3. No transfiera los reactivos de los controles a otros tubos. El instrumento utiliza los códigos de barras de los tubos para identificar al control.
4. Cada tubo de control, una vez abierto, es válido para 15 usos y puede permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento **en cada uso**.
5. Puede producirse contaminación química de los reactivos como consecuencia de un lavado o un aclarado inadecuados del instrumento. Los restos de sustancias químicas habituales en los laboratorios, como formol, lejía, etanol o detergente, pueden interferir en el análisis. Limpie siempre el instrumento siguiendo las recomendaciones indicadas en el manual del operador del BIO-FLASH.

Condiciones de almacenamiento

1. Guarde los controles no abiertos entre 2 y 8 °C. No los congele. Los reactivos permanecen estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan y se manipulan tal como está indicado.
2. Los controles abiertos son válidos para 15 usos y pueden permanecer como máximo **10 minutos** en el instrumento en cada uso. El tiempo máximo durante el que los tubos de control pueden permanecer destapados, una vez cargados en el instrumento, es de 2,5 horas o 10 minutos por uso. Si los controles permanecen destapados en el instrumento durante más de 2,5 horas en total, deben desecharse. Si se utiliza el mismo tubo de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.
3. Para conseguir una estabilidad óptima, retire los controles del sistema inmediatamente después de tomar las muestras y almacénelos tapados, entre 2 y 8 °C, en el vial original.

Procedimiento

Para crear nuevos materiales de control de calidad para el ensayo Ro52:

1. Antes de utilizar los controles QUANTA Flash Ro52 por primera vez en el instrumento, introduzca en el software el nombre, el lote, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en el botón de flecha **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Haga clic en el botón **New QC Material**.
3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica del lote. En primer lugar, introduzca en el software el nombre, el número de lote y la caducidad que figuran en esta hoja de datos. A continuación, haga clic en el botón **Add Assay**. En la ventana que se abrirá, debe estar marcada la casilla **Show All Assays**. Seleccione el ensayo Ro52 de la lista y haga clic en **Add**. Por último, introduzca la dosis objetivo y la DE objetivo. Haga clic en **Save**. Realice este proceso para ambos controles.

Para crear un nuevo lote para los materiales de control de calidad existentes:

1. Antes de utilizar un nuevo lote de los Controles QUANTA Flash Ro52 por primera vez, introduzca en el software el lote, la caducidad, el valor (o dosis) y la DE objetivo.
2. En la pantalla **Instrument Summary**, haga clic en el botón de flecha **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Marque el ensayo Ro52 en la columna de la izquierda. A continuación, seleccione el material de control apropiado en la derecha (“Ro52N” para el control negativo o bien “Ro52P” para el control positivo). Haga clic en el botón **New QC Lot**.
3. Cada grupo de control incluye una hoja de datos específica del lote. Introduzca la información de esta hoja de datos en el software. Dicha información debe comprender el número de lote, la caducidad, la dosis objetivo y la DE objetivo. Si es necesario, haga clic en el botón **Add Assay**. En la ventana que se abrirá, debe estar marcada la casilla **Show All Assays**. Seleccione el ensayo Ro52 de la lista y haga clic en **Add**. Haga clic en **Save**. Realice este proceso para ambos controles.

Se recomienda utilizar una vez los Controles QUANTA Flash Ro52 los días en que se realice el ensayo.

Cada control debe mezclarse suavemente antes de utilizarlo, para garantizar su homogeneidad. Evite la formación de espuma, ya que las burbujas pueden interferir en la detección del nivel de líquido de los instrumentos. Destape los dos tubos del control y colóquelos en una gradilla de muestras, con los códigos de barras orientados hacia delante a través de las aberturas de la gradilla. Coloque la gradilla de muestras en la bandeja de muestras del instrumento BIO-FLASH y cierre la puerta. El instrumento leerá los códigos de barras de los tubos del control e identificará el cartucho de reactivos adecuado. Consulte el manual del operador suministrado con el sistema BIO-FLASH para obtener instrucciones de funcionamiento detalladas sobre el analizador por quimioluminiscencia BIO-FLASH y el software BIO-FLASH.

Trazabilidad

No está disponible ningún suero de referencia internacional para los anticuerpos anti-Ro52 que permita estandarizar los ensayos con estos anticuerpos. En su lugar, se ha analizado el suero de referencia del Center of Disease Control and Prevention para anticuerpos anti-SS-A/Ro (IS2105 ANA núm.7 anti-SS-A/Ro) y se ha determinado una concentración de 40,8 CU.

Limitaciones

Estos controles están diseñados para 15 usos. La etiqueta de cada tubo de control posee una fila de 15 casillas que pueden marcarse para realizar un seguimiento del número de usos. El tiempo máximo durante el que los tubos de control pueden permanecer destapados, una vez cargados en el instrumento, es de 2,5 horas o 10 minutos por uso. Los controles destapados que permanezcan en el instrumento durante más tiempo deben desecharse. Si se utilizan los mismos tubos de control para más de 15 usos y/o durante más de 2,5 horas en total, pueden producirse resultados erróneos.

Bibliografía

1. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA: **Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens**. **American College of Pathologists**. *Arch Pathol Lab Med.* 2000, **124(1)**:71-81.

2. Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M: **Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system**. *Autoimmun Rev.* 2009, 8(7):632-637.

3. Ghillani P, André C, Toly C, Rouquette AM, Bengoufa D, Nicaise P, Goulvestre C, Gleizes A, Dragon-Durey MA, Alyanakian MA, Chretien P, Chollet-Martin S,Musset L, Weill B, Johanet C: **Clinical significance of anti-Ro52 (TRIM21)antibodies non-associated with anti-SSA 60kDa antibodies: results of a multicentric study**. *Autoimmun Rev*. 2011, **10(9)**: 509-513.

4. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G, Bollani S, Saibeni S, Puttini PS: **Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies**. *Autoimmun Rev.* 2011, **10(3)**:150-154.

5. Parker JC, Burlingame RW, Bunn CC: **Prevalence of antibodies to Ro-52 in a serologically defined population of patients with systemic sclerosis**. *J Autoimmune Dis.* 2009, **6;6**:2.

6. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree Egberts W, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A, Grøndal G, Hietarinta M, Isenberg D, Kalden JR, Lundberg I, Moutsopoulos H, Roux-Lombard P, Vencovsky J, Wikman A, Seelig HP, van Engelen BG, van Venrooij WJ: **Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis**. *Ann. Rheum. Dis.* 2001, **60(2)**:116-123.

7. Rutjes SA, Vree Egberts WT, Jongen P, Van Den Hoogen F, Pruijn GJ, Van Venrooij WJ. **Anti-Ro52 antibodies frequently co-occur with anti-Jo-1 antibodies in sera from patients with idiopathic inflammatory myopathy**. *Clin Exp Immunol.* 1997, **109(1)**:32-40.

8. La Corte R, Lo Mo Naco A, Locaputo A, Dolzani F, Trotta F: **In patients with antisynthetase syndrome the occurrence of anti-Ro/SSA antibodies causes a more severe interstitial lung disease**. *Autoimmunity* 2006, **39(3)**: 249-253.

9. Vancsa A, Csipo I, Nemeth J, Devenyi K, Gergely L, Danko K: **Characteristics of interstitial lung disease in SS-A positive/Jo-1 positive inflammatory myopathy patients**. *Rheumatol. Int.*2009, **29(9)**: 989-994.
10. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition**. Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009.

Símbolos utilizados

Producto sanitario para diagnóstico *In Vitro*

Consulte las instrucciones de uso

Límites de temperatura

No reutilizar

Riesgos biológicos

Código del lote

Número de catálogo

Caducidad

Fabricante

Representante autorizado

Contenido suficiente para < n > análisis

Control positivo

Control negativo

Calibrador 1

Calibrador 2

Caja de cartón reciclable

Mantener en esta posición

QUANTA Flash es una marca comercial de INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH es una marca

comercial registrada de Biokit SA © 2012

Fabricado por:
INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
Estados Unidos de América
Servicio técnico (solo para EE. UU. y Canadá): 877-829-4745
Servicio técnico (fuera de EE. UU.): 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Representante autorizado en la UE:
Medical Technology Promedt Consulting GmBH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Alemania
Tel.: +49-6894-581020
Fax: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621260ESP Noviembre de 2012
Revisión 0

CE